

Elaine Cristina da Silva Fantinatti

AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE DE *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 AO
INSETICIDA TEMEPHOS NOS MUNICÍPIOS DE FOZ DO IGUAÇU E
PARANAVAÍ, PARANÁ, BRASIL

Monografia apresentada como requisito parcial para
obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas,
Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Mário Antônio Navarro da Silva

Co-orientador: M. C. Jonny Edward Duque Luna

Curitiba

2006

DEDICATÓRIA

À todos, em especial meus pais, que
como eu acreditam que nada é impossível
aos olhos do que crê e que tudo podemos
naquele que nos fortalece.

Filipenses 4:13.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Dr. Mário Antonio Navarro da Silva, pela oportunidade de realizar meu trabalho neste laboratório e pela orientação.

Ao meu co-orientador, Jonny Edward Duque Luna, pelo companheirismo, pela orientação e pela disponibilidade em todos os momentos que necessitei.

Aos colegas de laboratório: Lisiane, Daniela, Eduardo, Ana Cristina, Ricardo, Andréia, Ana Caroline e Gérson, sempre dispostos a ajudar nos longíssimos testes e análises estatísticas.

Aos meus amigos. São incontáveis as pessoas que passaram pela minha vida acadêmica, mas foram poucos os que deixaram pegadas para sempre em minha vida e meu coração. Muito obrigada pelos toques, conselhos, puxões de orelha, por me escutar nos mais difíceis momentos. Amizades assim nunca perdem seu brilho, sobrevivem para sempre. Muito obrigada!

A minha família, que em todos os momentos, mesmo geograficamente longe, sempre estiveram aqui junto a mim, em pensamentos e orações. Pai, mãe, Eduardo e Heloisa, obrigada por cada palavra que me motivou a nunca desistir de meus sonhos, meus ideais. Amo muito vocês!

EPÍGRAFE

Aprender é a única coisa que a
mente nunca se cansa, nunca tem medo e
nunca se arrepende.

Leonardo da Vinci

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vi
RESUMO	vii
INTRODUÇÃO	09
OBJETIVOS GERAIS	17
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
MATERIAIS E MÉTODOS	18
RESULTADOS	22
DISCUSSÃO	26
CONCLUSÕES	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

LISTA DE TABELAS

Tabela I: Resultados dos bioensaios com larvas do município de Foz do Iguaçu.....	23
Tabela II: Resultados dos bioensaios com larvas do município de Paranavaí	24
Tabela III: Concentrações letais (LC's), razões de resistência (RR), X^2 e a inclinação da reta na equação de regressão	25

RESUMO

Os casos de dengue e dengue hemorrágica têm apresentado oscilações nos últimos anos, com os maiores picos de incidência da doença em regiões onde as condições ambientais favorecem o aumento populacional do mosquito transmissor, *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762). O único modo de conter o avanço da dengue, tanto em número de casos quanto em abrangência territorial, é fazendo o controle dos vetores de modo a manter seus níveis de ocorrência baixos, uma vez que não há vacina ou terapia que possa evitá-la até o momento. O controle de culicídeos vetores é feito com uso de inseticidas químicos, que tem ação mais rápida e maior persistência no meio do que os entomopatógenos, em que pese os benefícios ambientais desta última alternativa, porém é necessário monitoramento constante do nível de susceptibilidade destas populações aos métodos químicos empregados. O objetivo desta investigação foi analisar a susceptibilidade de larvas de terceiro e quarto instar de *Aedes aegypti* provenientes de Foz do Iguaçu e Paranavaí ao inseticida organofosforado temephos e determinar a Razão de resistência (RR) e Concentrações letais (CL) 50 % e 95%. Foram distribuídas 25 paletas de eucatex em recipientes com 500 ml de solução de feno cada em diversos pontos das duas cidades do Paraná. A partir dos ovos das paletas foram obtidas larvas para estabelecimento e manutenção de colônias F1 em condições ambientais controladas. Foram utilizadas oito concentrações de solução inseticida nas populações testadas e sete concentrações para a colônia *Aedes aegypti* Rockfeller MC, além de controles. Foram realizadas quatro réplicas de cada bioensaio. As populações de Foz do Iguaçu e Paranavaí apresentaram, respectivamente, 93.43% e 97.5% de mortalidade, quando utilizada a concentração diagnóstico (CD) 0.0125 ppm i.a. As LC's₅₀ foram de 0.00456 ppm i.a. e 0.00560 ppm i.a. e LC's₉₅ foram 0.01187 ppm i.a. e 0.01018 ppm i.a. para Foz do Iguaçu e Paranavaí, respectivamente. Quando comparadas com a colônia padrão *Aedes aegypti* Rockfeller MC, têm-se $RR_{50}=2.636$ e $RR_{95}=3.997$ para Foz do Iguaçu e $RR_{50}=3.237$ e $RR_{95}=3.428$ para Paranavaí. Os valores das LC's são significativamente diferentes ($p<0.05$), exceto quando comparado Foz do Iguaçu e Paranavaí quanto à LC₅₀. As populações analisadas são consideradas susceptíveis à concentração

diagnóstico sugerida pela WHO (1992) para o inseticida organofosforado temephos. As razões de resistência baixas corroboram o status de susceptibilidade das populações.

INTRODUÇÃO

Os casos de dengue e dengue hemorrágica têm apresentado oscilações nos últimos anos, com os maiores picos de incidência da doença em regiões onde as condições ambientais favorecem o aumento populacional do mosquito. No Brasil e demais países da América Latina o *Aedes aegypti* é o principal transmissor, enquanto na África e Ásia é a espécie *Aedes albopictus* (Skuse, 1894). *Ae. aegypti* é um mosquito tido como tropical e subtropical, geralmente distribuindo-se entre os paralelos 45° de latitude norte e 40° de latitude sul, sendo praticamente cosmopolita (Forattini, 2002).

O único modo de conter o avanço da dengue, tanto em número de casos quanto em abrangência territorial, é fazendo o controle dos vetores de modo a manter seus níveis de ocorrência baixos, uma vez que não há vacina ou terapia que possa evitá-la. A forma mais utilizada para controle de vetores de arboviroses que transmitem a dengue é o uso de inseticidas químicos, devido à alta persistência no ambiente e ação mais rápida que os métodos com entomopatógenos como o Bti (Forattini, 2002).

O Brasil erradicou o *Ae. aegypti* nos anos 1940 destruindo os criadouros e estendendo os programas para países vizinhos. Com a volta deste vetor em 1967, o controle desses insetos vem sendo realizado por programas de saúde pública desde então com o emprego de inseticidas químicos como o organofosforado temephos, que só foi substituído em 1999 pelo piretróide cipermetrina em todos os estados, exceto São Paulo que já o usava desde 1989. Mas a eficácia dos

piretróides pode estar comprometida por possível resistência cruzada devido ao uso no passado de DDT e outros inseticidas clorados (Campos & Andrade, 2001).

Uma das maiores dificuldades para controlar os mosquitos é a resistência que é definida como a habilidade de tolerar doses tóxicas, que seriam letais à maioria dos indivíduos de uma população normal da mesma espécie (WHO, 1957; FAO, 1970). Dentro dos tipos de resistência encontramos a resistência cruzada que é um mecanismo pelo qual um gene confere resistência a produtos químicos de um mesmo grupo, podendo ocorrer a resistência a dois ou mais inseticidas após o contato com apenas um destes (WHO, 1957; Stenersen, 2004). A resistência cruzada pode ocorrer também com inseticidas não relacionados, mas que são detoxificados pela mesma enzima. Há também a resistência múltipla que é desenvolvida após exposição à vários inseticidas. Como após a aplicação do produto os animais susceptíveis morrem, a maioria dos indivíduos das próximas gerações terão os genes para resistência (os alelos que conferem resistência são selecionados), fazendo deles também resistentes a doses iguais à primeira aplicada. A resistência em insetos geralmente ocorre após uma década de introdução de um novo pesticida (Stenersen, 2004).

Stenersen (2004) classifica os pesticidas em 7 classes: inibidores de enzimas, que são moléculas similares as enzimas e bloqueiam seus sítios de ligação, como carbamatos e inseticidas organofosforados (inibem a enzima acetilcolinesterase); que perturbam os sinais do sistema nervoso (agonistas como a nicotina, que imita as moléculas verdadeiras ou antagonistas que inibem o sítio receptor da substância verdadeira); substâncias que geram moléculas muito reativas que destroem componentes celulares; algumas substâncias, como

amônia, fenóis e ácido acético, podem se dissolver na membrana mitocondrial, penetrar na matriz e modificar o pH; tóxicos que se dissolvem em membranas lipolíticas e destroem sua estrutura física (álcoois, petrol, aromáticos, hidrocarbonetos clorados); tóxicos que perturbam o balanço eletrolítico, osmótico ou de pH, como os sais e substâncias que destroem tecidos, DNA ou proteínas, como ácidos fortes, gás clorídrico.

Os inseticidas agem de diferentes maneiras. Podem envenenar por contato, penetrando pela cutícula até alcançar seu sítio ativo, como os organofosforados, organoclorados, piretróides, carbamatos, análogos de hormônios juvenis e inibidores do crescimento de quitina. Os inseticidas bacteriológicos são ingeridos e absorvidos pelo intestino (Bti, que libera endotoxina que destrói as células da parede do intestino médio). Os inseticidas também podem penetrar pelos espiráculos do sistema respiratório.

Os organoclorados foram desenvolvidos durante a 2ª Guerra Mundial (malária, tifo exantemático, etc) e são hidrocarbonetos clorados. Apresentam longa persistência (até 30 anos no solo) e acumulam-se nas cadeias alimentares. Estabilidade e resistência a ataque de microrganismos leva a não serem facilmente degradados. Atuam por ingestão e contato no sistema nervoso, bloqueando a transmissão dos impulsos nervosos. Os organofosforados foram os primeiros a substituírem os organoclorados (década de 40), ao qual os insetos já apresentavam resistência. Há produtos extremamente tóxicos e também alguns de baixa toxicidade (o temephos pode ser utilizado até mesmo em água potável). Podem ser fosfatos (diclorvos), fosforotioatos (fenitrothin, temephos) e fosforoditioatos (malathion, dimetoato), de persistência curta (1 a 3 meses),

biodegradáveis e seu armazenamento sob altas temperaturas pode potencializar seus efeitos. Agem por ingestão e contato como inibidores de enzimas colinesterases, em especial funcionando como análogos da acetilcolina (Ach), inibindo a acetilcolinesterase (Ache) das ligações sinápticas, aumentando os impulsos nervosos.

Os carbamatos apresentam pequeno espectro de atividade inseticida e começaram a ser comercializados na década de 50. São derivados do ácido carbâmico, classificados em inseticidas (e nematicidas), herbicidas e fungicidas. Geralmente instáveis e com sua decomposição são formados amônia, amina, dióxido de carbono, fenol e álcoois. Tem ação igual aos organofosforados (inibidor de enzimas colinesterases), mas o mecanismo de ação é diferente. Em 1976 os piretróides foram introduzidos no mercado e vêm sendo bastante utilizado nas áreas da Saúde e Agricultura devido à alta eficiência (uso de menor quantidade) e podem ter seus efeitos potencializados com uso de sinergistas. Estes compostos sintéticos semelhantes aos extraídos de crisântemo, com boa estabilidade sob luz e temperatura ambiente, de degradação rápida (não são acumulados em altos níveis). Agem muito rapidamente na transmissão de impulsos nervosos por interferir no fechamento dos canais de sódio das membranas nervosas depois que o impulso é passado, mantendo contínua a passagem de impulso nervoso, levando o animal a contração e posteriormente paralisia. Ainda não se sabe qual sítio de ação dos piretróides é mais importante (central ou periférico) para seu efeito letal, mas podem ter efeitos repelentes sobre os insetos, vem tomando o lugar dos organofosforados e são considerados seguros (em concentrações baixas) aos mamíferos (Sucen, 2001; Bisset, 2002)

Existem vários registros de trabalhos que avaliam a susceptibilidade de populações de *Ae. aegypti*. Na Venezuela Mazzarri & Georghiou (1995) concluíram, através dos resultados de bioensaios, que estas são altamente susceptíveis a malathion, fenitrothion e fenthion, mas sugerem que resistência a organofosforados, carbamatos e piretróides já é encontrada nesta população. Sames *et al.* (1996) coletaram larvas no Texas (Lower Rio Grande Valley – EUA) e México e com os adultos realizaram testes de susceptibilidade com malathion, chlorpyrifos, resmethrin e permethrin. Os resultados indicam que as populações ainda são susceptíveis a estes inseticidas.

Em Santiago de Cuba, Rodriguez *et al.* (1999) analisaram os níveis de resistência de *Ae. aegypti* a inseticidas. Baixos níveis foram detectados com uso de fenethion, malathion e deltametrina, e para temephos, pirimiphos metil e cipermetrina obtiveram-se valores moderados no nível de resistência. Wirth & Georghiou (1999) encontraram altos níveis de resistência a temephos e permethrin em população de *Ae. aegypti* de Tortola, Ilhas Virgens Britânicas.

Prieto *et al.* (2002) avaliaram a susceptibilidade de larvas de *Ae. aegypti* a temephos e triflumurum de três áreas da cidade de Cali (Colômbia), encontrando alta susceptibilidade a ambos os inseticidas. Somboon *et al.* (2003) encontraram alta resistência ao DDT em populações de *Ae. aegypti* do norte da Tailândia, algumas foram resistentes a permethrin e deltamethrin e nenhuma se mostrou resistente a lambda-cyhalothrin e fenitrothion. Bisset *et al.* (2003) determinaram os níveis de susceptibilidade de larvas e adultos de *Ae. aegypti* de duas populações do Panamá (Rio Abajo e Victoriano Lorenzo) a organofosforados e piretróides. Os adultos mostraram-se susceptíveis aos piretróides deltametrina, lambdacialotrina,

cipermetrina e ciflutrina. As larvas mostraram-se resistentes a pirimifos metil e susceptíveis aos demais inseticidas organofosforados (temefos, malation, fention, fenitrothion e clorpirifos) e piretróides (deltametrina, lambdacialotrina, cipermetrina e ciflutrina).

Vezzani *et al.* (2004) usou o inseticida temephos em um cemitério de Buenos Aires, Argentina e os resultados sugerem alta susceptibilidade ao temephos. Chávez *et al.* (2005) determinaram os níveis de resistência de duas populações do Peru (Sullana e El Porvenir) a temephos e deltametrina, com ambas apresentando susceptibilidade a temephos e uma delas a deltametrina (El Porvenir). Dorta *et al.* (2005) mostraram que a cepa de *Ae. aegypti* proveniente do município de Playa, cidade de Havana, Cuba são resistentes a lambdacialotrina, cipermetrina e clorpirifos.

No Brasil vários são os trabalhos para avaliar os inseticidas aqui utilizados. Andrade & Modolo (1991) utilizaram temephos e *Bacillus thuringiensis var israelensis* em Campinas (SP) no distrito Manoel da Nóbrega e relataram possível resistência da população. Em estudo analisando a susceptibilidade de larvas de *Ae. aegypti* provenientes dos municípios de Bauru e Marília (SP), e Goiânia (Goiás) à temephos, Macoris *et al.* (1995) obtiveram como resultado diferença de mortalidade entre larvas do estado de São Paulo e Goiás, não significando porém o surgimento de resistência nas populações.

Macoris *et al.* (1999) utilizaram os inseticidas organofosforados temephos e fenitrothion para avaliar a susceptibilidade de populações dos municípios de Araçatuba, Bauru, Barretos, Campinas, Marília, Presidente Prudente, Ribeirão

Preto, Santos e São José do Rio Preto (SP). O nível de susceptibilidade variou em Campinas e Santos, mas não o suficiente para serem consideradas resistentes.

Campos & Andrade (2001) usaram propoxur, temephos, fenitrothion, cipermetrina, cyflutrin e betacyflutrin para avaliar a susceptibilidade larval de populações de Campinas, SP (campus da UNICAMP) e Campo Grande, MS (campus da UFMS) encontrando susceptibilidade em ambas populações, porém com UNICAMP apresentando modificações nos padrões de concentrações letais.

Lima *et al.* (2003) avaliaram a susceptibilidade de larvas e adultos de *Ae. aegypti* no Rio de Janeiro (Campos dos Goytacazes, Duque de Caxias, Niterói, Nova Iguaçu, Rio de Janeiro, São Gonçalo e São João de Meriti) e Espírito Santo (Cariacica, Vila Velha e Vitória) a temephos, fenitrothion e malathion. Indivíduos de todos os municípios do Rio de Janeiro e de Vila Velha mostraram-se resistentes a temephos, duas resistentes a fenitrothion (Duque de Caxias e Nova Iguaçu) e nenhuma delas apresentou resistência a malathion. Campos & Andrade (2003) determinaram como susceptíveis larvas de *Ae. aegypti* provenientes do campus da UFMS aos inseticidas temephos, cipermetrina e ciflutrina. Macoris *et al.* (2003) utilizaram larvas dos municípios de Presidente Prudente, Araçatuba, São José do Rio Preto, Ribeirão Preto, Barretos, Campinas, São Paulo (Pirituba), Santos, Bauru e Marília (SP) para avaliar a susceptibilidade aos organofosforados temephos e fenitrothion. A única população considerada resistente a ambos foi a de Santos e as susceptíveis foram as de Marília e Presidente Prudente.

Braga *et al.* (2004) em estudo feito em municípios dos estados de Alagoas (Arapiraca e Maceió), Sergipe (Aracaju, Barra dos Coqueiros e Itabaiana) e Rio de Janeiro (Campos dos Goytacazes, Duque de Caxias, Niterói, Nova Iguaçu, Rio de

Janeiro, São Gonçalo, São João do Meriti) e distritos do município do Rio de Janeiro (Bangu, Campo Grande, Jardim América, Penha, Pilares, Realengo, Rocha Miranda e São Cristóvão) obtiveram como resultado resistência de 8 populações ao inseticida temephos. Carvalho *et al.* (2004) avaliaram a susceptibilidade de populações de Ceilândia, Gama, Guará, Núcleo Bandeirante, Planaltina, Sobradinho e Taguatinga (DF) ao inseticida temephos durante os anos de 2000 e 2001. No primeiro ano Taguatinga, Guará e Núcleo Bandeirante mostraram-se resistentes, Ceilândia susceptíveis e nas demais cidades os níveis de resistência estavam alterados. Em 2001 todas as populações analisadas mostraram-se resistentes.

Duque *et al.* (2004) analisaram a susceptibilidade de *Ae. aegypti* de Curitiba a temephos e cipermetrina, tendo como resultado a susceptibilidade a temephos e resistência a cipermetrina, sendo este o único trabalho publicado que foi realizado no Paraná. Pereira-da-Cunha *et al.* (2005) avaliaram a susceptibilidade de *Ae. aegypti* ao piretróide cipermetrina em municípios de Alagoas, Sergipe e Rio de Janeiro entre os anos de 2001 e 2003. Em 2001 nenhuma população foi considerada realmente resistente, mas entre 2002/2003 13 das 15 populações analisadas apresentaram níveis de mortalidade compatíveis com resistência.

OBJETIVO GERAL

Avaliar os níveis de resistência de *Ae. aegypti* ao inseticida organofosforado temephos, nos municípios de Foz do Iguaçu e Paranavaí, Paraná.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analisar a susceptibilidade de larvas de terceiro e quarto ínstares de *Ae. aegypti* provenientes de Foz do Iguaçu e Paranavaí ao inseticida organofosforado temephos.

Determinar a Razão de resistência (RR) e Concentrações letais (CL) 50 % e 95% de populações de *Ae. aegypti* provenientes de Foz do Iguaçu e Paranavaí ao inseticida organofosforado temephos.

MATERIAL E MÉTODOS

Estabelecimento e manutenção das colônias utilizadas

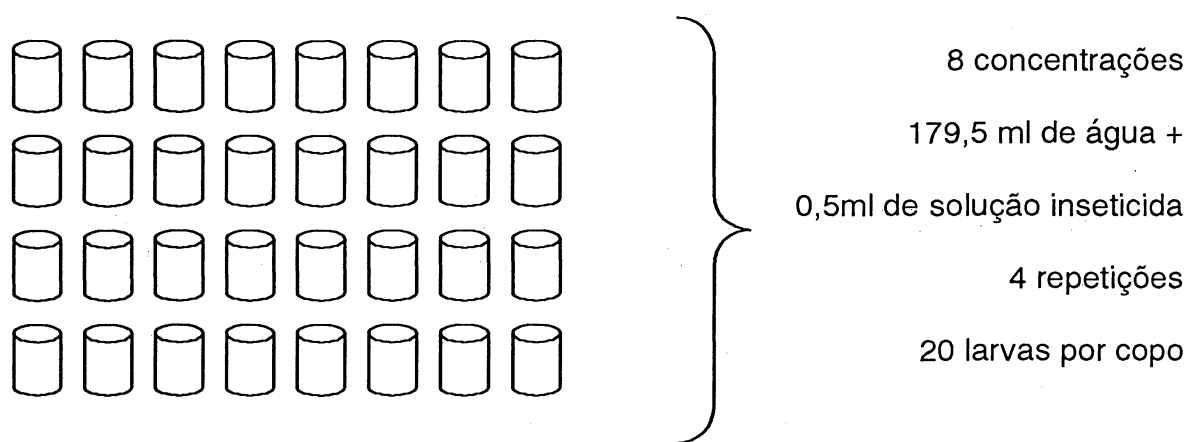
Com colaboração da Secretaria Estadual de Saúde do Paraná foram distribuídas 25 paletas de eucatex em recipientes com 500 ml de solução de feno cada em diversos pontos da cidade de Foz do Iguaçu, Paraná. O mesmo procedimento foi realizado para o município de Paranavaí, neste mesmo Estado. Depois as paletas positivas foram enviadas para o Laboratório de Entomologia Médica e Veterinária da Universidade Federal do Paraná. A partir dos ovos das paletas foram estabelecidas colônias mantidas em sala de criação no Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná. As gerações F1 e F2 provenientes foram utilizadas nos testes de susceptibilidade. A linhagem utilizada como colônia padrão foi a *Ae. aegypti* Rockefeller MC (Margareth Capurro).

Realização dos testes com larvas

O inseticida usado no teste com larvas foi temephos "Temefós tec. 90%" (Fersol). Larvas de terceiro estágio tardio ou quarto estágio inicial foram utilizadas nos bioensaios. Para cada recipiente utilizaram-se 20 larvas (pote descartável de 350 ml), uma repetição com a concentração diagnóstico 0.0125 ppm i.a. (WHO, 1992) e nove concentrações múltiplas para avaliação (teste piloto). Após este teste, oito concentrações múltiplas foram escolhidas dentre as testadas para o uso nos bioensaios subseqüentes, nos quais foram feitas quatro réplicas por concentração. Para a colônia padrão *Ae. aegypti* Rockefeller MC foram utilizadas

sete concentrações de temephos. Em cada experimento foram utilizadas 720 larvas para a colônia analisada e 640 larvas da colônia padrão, mantidas sob as mesmas condições de temperatura, umidade e fotoperíodo.

Cada 20 larvas foram transferidas da bacia de criação para um Becker graduado e elevado o volume para 20 ml e depois transferido para pote descartável de 50 ml. Em potes de 200 ml adicionaram-se 180 ml de água mineral comercial (OuroFino®) e removidas 0,5 ml de cada, sendo repetido o procedimento até obtenção de 40 potes com esse mesmo volume. Todos os copos foram identificados quanto à concentração e a réplica, inclusive os testemunhas. Nos copos testemunhas foram acrescentados 0,5 ml de etanol e nos expostos um volume de etanol que somado ao volume da solução de inseticida necessário para aquela concentração seja igual a 0,5 ml (Figura 1). Todos os copos foram homogeneizados com bastão de vidro por 30 segundos. Aguardou-se de 15 a 30 minutos para estabilização da solução e transferiu-se as larvas para os copos grandes. A leitura da mortalidade foi avaliada após 24 horas do início dos bioensaios (exposição das larvas à solução com inseticida), contando-se as larvas vivas e caídas, sendo as mortas computadas pela diferença do total de vivas e caídas, pois larvas mortas podem servir de alimento para as vivas ou mesmo para aranhas e formigas existentes na sala onde está sendo realizado o teste.

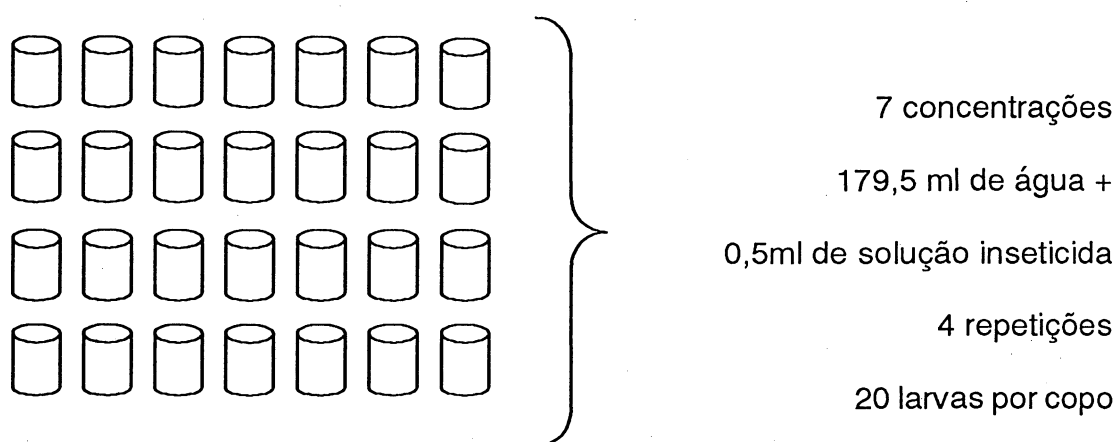


Colônia analisada



Controle

179,5 ml de água+
0,5ml de etanol



Colônia Rockefeller MC



Controle

179,5 ml de água+
0,5ml de etanol

Figura 1: Modelo para os testes com temephos.

Análise dos resultados

A mortalidade por concentração foi registrada 24 horas após a exposição à solução contendo inseticida, bem como a variação de temperatura durante o bioensaio. As concentrações letais CL_{50} e CL_{95} foram estimadas utilizando o programa PROBIT e BASIC (Finney, 1971). A susceptibilidade foi comparada com a cepa *Ae. aegypti* Rockefeller MC para obtenção das razões de resistência RR_{50} e RR_{95} ,

$$RR_{50} = \frac{CL_{50} \text{ da colônia analisada}}{CL_{50} \text{ da colônia padrão}}$$

$$RR_{95} = \frac{CL_{95} \text{ da colônia analisada}}{CL_{95} \text{ da colônia padrão}}$$

Foi realizada análise de variância para avaliação entre as concentrações letais 50% e 95% (LC's), com os testes ANOVA e posteriormente Tukey HSD for unequal N. Valores de p menores que 0.05 foram considerados significativos e valores maiores foram considerados não significativos.

Para determinar a resistência dos bioensaios o critério utilizado foi: mortalidade igual ou superior a 98% configura status de susceptível, de 80 a 97% de mortalidade, verificação da resposta com a repetição do experimento, e abaixo de 80% de mortalidade considera-se resistente (WHO 1992). Nos bioensaios realizados no Brasil mortalidade de até 90% considera-se a população susceptível. Também, quando populações de campo são testadas e comparadas com populações padrão, mudanças na resposta ao inseticida até três vezes maior que nas razões de resistência considera-se tolerância; de três a cinco vezes, resistência baixa; de cinco a dez vezes, moderada; de 10 a 20 vezes, média e acima de 20, resistência alta (Campos & Andrade, 2003).

RESULTADOS

Os resultados dos bioensaios realizados com larvas provenientes do município de Foz do Iguaçu estão expostos na Tabela 1 e na Tabela 2 estão os resultados dos bioensaios de Paranavaí.

Nos testes realizados com concentração diagnóstico (CD) 0.0125 ppm i.a. a população de Foz do Iguaçu apresentou mortalidade de 93.43% e 6.57% de sobrevivência, enquanto a população de Paranavaí apresentou 97.5% de mortalidade e 2.5% de sobrevivência.

Nos testes com concentrações múltiplas foi detectada, para Foz do Iguaçu, $LC_{50}=0.00456$ ppm i.a., $RR_{50}=2.636$, $LC_{95}=0.01187$ ppm i.a. e $RR_{95}=3.997$. Para Paranavaí os valores foram: $LC_{50}=0.00560$ ppm i.a., $RR_{50}=3.237$, $LC_{95}=0.01018$ ppm i.a. e $RR_{95}=3.428$ (Tabela 3).

O X^2 foi de 6.028 para Foz do Iguaçu e 6.434 para Paranavaí, valores considerados não significativos. A inclinação da reta da equação de regressão foi de 3.961 e 6.434, respectivamente (Tabela 3), que tem como equação:

$$Y = A + \text{slope} \cdot (X - M).$$

Tabela I: Resultados dos bioensaios com larvas do município de Foz do Iguaçu

ul/copo	Conc. Ppm	Expostos	MortosT1 28/10/05	MortosT2 04/11/05	MortosT3 14/11/05	MortosT4 25/11/05	Mortalidade Total	% Mortalidade	Média	Desvio
0	0	320	0	2	0	0	2	0,62	0,5	1
100	0,003	320	17	28	27	7	79	24	19,75	9,845
150	0,0045	320	47	44	32	28	151	47	37,75	9,179
200	0,006	320	64	49	56	47	216	67,5	54	7,703
250	0,0075	320	67	67	73	61	268	83,75	67	4,899
300	0,009	320	73	70	72	70	285	89,06	71,25	1,5
350	0,0105	320	76	74	73	71	294	91,87	73,5	2,082
400	0,012	320	74	78	72	75	299	93,43	74,75	2,5
500	0,015	320	77	79	80	79	315	98,43	78,75	1,258

Colônia *Aedes aegypti* Rockefeller MC

ul/copo	Conc. Ppm	Expostos	MortosT1 28/10/05	MortosT2 04/11/05	MortosT3 14/11/05	MortosT4 25/11/05	Mortalidade Total	% Mortalidade	Média	Desvio
0	0	240		0	0	0	0	0	0	0
40	0,0012	240		34	3	3	40	16,6	13,33	17,89786
43	0,00129	240		35	8	3	46	19,1	15,33	17,21434
45	0,00135	240		52	12	4	68	28,3	22,66	25,7164
50	0,0015	240		48	29	0	77	32	25,66	24,17299
55	0,00165	240		52	40	19	111	46,2	37	16,70329
60	0,0018	240		53	18	29	130	54,1	43,33	12,66228
80	0,0024	240		77	76	67	220	91,6	73,33	5,507571

Tabela II: Resultados dos bioensaios com larvas do município de Paranavaí

ul/copo	Conc. Ppm	Expostos	MortosT1 30/11/05	MortosT2 06/11/05	MortosT3 10/12/05	MortosT4 13/12/05	Mortalidade Total	% Mortalidade	Média	Desvio
0	0	320	0	0	0	0	0	0	0	0
100	0,003	320	2	0	6	1	9	2,8125	2,25	2,629956
150	0,0045	320	18	25	26	25	94	29,375	23,5	3,696846
200	0,006	320	36	50	65	35	186	58,125	46,5	14,10674
250	0,0075	320	66	60	16	64	206	64,375	51,5	23,79776
300	0,009	320	70	68	80	75	293	91,5625	73,25	5,377422
350	0,0105	320	77	75	80	74	306	95,625	76,5	2,645751
400	0,012	320	77	75	80	80	312	97,5	78	2,44949
500	0,015	320	20	78	80	80	258	80,625	64,5	29,68164

Colônia *Aedes aegypti* Rockefeller MC

<i>Aedes aegypti</i>		Localidade Rockefeller		Testes realizados em copos de 300ml, volume final 200ml							
		Conc. Ppm	Expostos	MortosT1 30/11/05	MortosT2 06/11/05	MortosT3 10/12/05	MortosT4 13/12/05	Mortalidade Total	% Mortalidade	Média	Desvio
0	0	320	320	0	0	0	1	1	0,3125	0,25	0,5
40	0,0012	320	320	0	0	46	2	48	15	12	22,68627
43	0,00129	320	320	2	3	56	0	61	19,0625	15,25	27,19528
45	0,00135	320	320	2	3	60	2	67	20,9375	16,75	28,83719
50	0,0015	320	320	2	2	53	9	66	20,625	16,5	24,55606
55	0,00165	320	320	0	17	57	14	88	27,5	22	24,48129
60	0,0018	320	320	7	34	69	37	147	45,9375	36,75	25,38208
80	0,0024	320	320	45	71	79	75	270	84,375	67,5	15,35144

Tabela III: Concentrações letais (LC's), razões de resistência (RR), X^2 e a inclinação da reta na equação de regressão.

	LC 50	RR 50	LC 95	RR 95	X^2	Inclinação
Rockefeller MC	0.00173 ^a (0.00168 – 0.00175)	*	0.00297 ^a (0.00278 – 0.00322)	*	1.210	7.003
Foz do Iguaçu	0.00456 ^{b,d} (0.00121 – 0.00156)	2.636	0.01187 ^b (0.01121 – 0.01267)	3.997	6.028	3.961
Paranavaí	0.00560 ^{c,d} (0.00544 - 0.00576)	3.237	0.01018 ^c (0.00976 - 0.01067)	3.428	6.434	6.434

Letras iguais na mesma coluna significam diferenças significativas entre os valores. Letras iguais indicam diferenças não significativas entre os valores.

DISCUSSÃO

O monitoramento do nível de resistência de populações de *Ae. aegypti* é realizado no Brasil desde o ano de 1999, apesar de o controle químico ser realizado desde meados dos anos 80. Poucos municípios de cada Estado são analisados, pois este monitoramento é somente realizado por dois laboratórios: a Superintendência de Controle de Endemias, em Marília (SP) e o Instituto Oswaldo Cruz, no Rio de Janeiro (RJ). (Funasa, 2000, Lima et al. 2003).

As populações de Foz do Iguaçu e Paranavaí analisadas são consideradas susceptíveis ao temephos, semelhante ao verificado para Curitiba, Campinas, Campo Grande, Marília e Presidente Prudente, o que pode ocorrer devido à semelhança entre estes municípios quanto ao clima, à similaridade nos métodos empregados no controle e aos cuidados tomados pela população na eliminação de criadouros para este vetor (Campos & Andrade, 2001; Campos & Andrade, 2003; Macoris *et al.* 2003 & Duque *et al.* 2004). Outro fator que pode estar influenciando a susceptibilidade observada no presente trabalho é a possibilidade de as populações do Estado do Paraná serem menores quanto ao número de indivíduos, não precisando de intensa utilização de inseticida.

Entretanto há populações consideradas resistentes ao temephos, como verificado por Lima *et al.* (2003), Macoris et al. (2003) e Braga et al. (2004) para o município de Santos e algumas amostras provenientes de Rio de Janeiro, Espírito Santo, Alagoas, Sergipe, Estado e região metropolitana do Rio de Janeiro. Há a possibilidade destes locais realizarem aplicações extras deste inseticida (além do controle químico já realizado em nível nacional) na tentativa de controlar surtos do

dengue em curso, porém sem verificação posterior do nível de resistência das populações de *Ae. aegypti*. Também pode acontecer de parte da população não estar sendo atingida pelas campanhas de controle deste vetor (principalmente sobre a eliminação dos criadouros, sintomatologia e tratamento de doentes) e a isto se soma características climáticas propícias ao desenvolvimento de *Ae. aegypti*.

Uma medida muito valiosa para o controle das populações deste vetor seria maior vigilância nas fronteiras destes municípios com outros estados e países, como o caso de Paranavaí, que tem seus limites fronteiriços com o Estado de Mato Grosso do Sul (MS) e Foz do Iguaçu, que faz fronteira com Paraguai e Argentina. O uso de outros meios para o combate de *Ae. aegypti* no Mato Grosso do Sul, Paraguai e Argentina pode acarretar sérios problemas ao controle realizado no Estado do Paraná, como por exemplo, a introdução de insetos resistentes a inseticidas utilizados ou não aqui.

CONCLUSÕES

As populações de *Ae. aegypti* analisadas são consideradas susceptíveis à concentração diagnóstico sugerida pela WHO (1992) para o inseticida organofosforado temephos. As razões de resistência baixas corroboram o status de suscepbilidade das populações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andrade, C. F. S. & M. Modolo. 1991. Susceptibility of *Aedes aegypti* larvae to temephos and *Bacillus thuringiensis var israelensis* in integrated control. **Revista de Saúde Pública** 25(3); 184-187.

Bisset, J. A.; Rodríguez, M. M. & L. Cáceres. 2003. Niveles de resistência a insecticidas y sus mecanismos em 2 cepas de *Aedes aegypti* de Panamá. **Revista Cubana de Medicina Tropical** 55(3); 191-195.

Bisset, J.A. 2002. Uso correcto de insecticidas: control de la resistência. **Revista Cubana de Medicina Tropical** 54(3): 202-219.

Braga, I. A.; Lima, J. B. P.; Da Silva, S.S. & D. Valle. 2004. *Aedes aegypti* resistance to temephos during 2001 in several municipalities in the states of the Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 99(2): 199-203.

Campos, J. & C. F. S. Andrade. 2001. Susceptibilidade larval de duas populações de *Aedes aegypti* a inseticidas químicos. **Revista de Saúde Pública**. 35(3): 232-236.

- Campos, J. & C. F. S. Andrade. 2003. Susceptibilidade larval de *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* a inseticidas químicos. **Revista de Saúde Pública**. 37(4): 523-527.
- Carvalho, M.S. C.; Caldas, E. D.; Degallier, N.; Vilarinhos, P. T. R.; Souza, L. C. K. R.; Yoshizawa, M. A. C.; Knox, M.B. & C. Oliveira. 2004. Susceptibilidade de larvas de *Aedes aegypti* ao inseticida temefós no Distrito Federal. **Revista de Saúde Pública** 38(5): 623-629.
- Chávez, J. C. G.; Roldán, J. R. & F. V. Vargas. 2005. Niveles de resistência a dos insecticidas em poblaciones de *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae) del Peru. **Revista Colombiana de Entomologia** 31(1): 75-78.
- Dorta, D. M.; Rodríguez, M. C.; Delgado, S. S.; Sanches, D. F. & Silva, M. L. 2005. Estado de la resistência a insecticidas em adultos del mosquito *Aedes aegypti* del município Playa, Ciudad de La Habana, Cuba. **Revista Cubana de Medicina Tropical** 57(2): 137-142.
- Duque, J. E. L.; Martins, M. F.; Dos Anjos, A. F.; Kuwabara, E. F. & M. A. Navarro-Silva. 2004. Susceptibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas temephos e cipermetrina, Brasil. **Revista de Saúde Pública** 38(6): 842-843.
- FAO. 1970. Pest resistance to pesticide in agriculture. Importance, recognition and countermeasures. Rome: **FAO**. 32 pp.

Finney, D. J. Probit analysis. Cambridge (UK): **Cambridge University Press**; 1971.

Forattini, O. P. 2002. Culicidologia Médica, vol. 2: Identificação, Biologia, Epidemiologia. São Paulo: **Editora da Universidade de São Paulo**.

Funasa 2000. Relatório da reunião de avaliação de monitoramento da resistência das populações de *Aedes aegypti* do país. **Fundação Nacional de Saúde, Ministério da Saúde, Brasília**.

Lima, J. B. P.; Pereira da Cunha, M.; Silva-Jr, R. C. S.; Galardo, A. K. R.; Soares, S. S.; Braga, I. A.; Ramos, R. P. & D. Valle. 2003. Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several municipalities in the state of Rio de Janeiro and Espírito Santo, Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** **68**(3): 329-333.

Macoris, M. L. G.; Camargo, M. F.; Silva, I. G.; Takaku, L. & M. T. Andrighetti. 1995. Modificação da susceptibilidade de *Aedes (Stegomyia) aegypti* ao temephos. **Revista de Patologia Tropical** **24**(1): 31-40.

Macoris, M. L. G.; Andrighetti, M. T. M.; Takaku, L.; Glasser, C. M.; Garbeloto, V. C & V. C. B. Cirino. 1999. Alteração de resposta de susceptibilidade de *Aedes aegypti* a inseticidas organofosforados em municípios do estados de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública** **33**(5): 521-522.

Macoris, M. L. G.; Andrichetti, M. T.; Takaku, L.; Glasser, C. M.; Garbeloto, V. C. & J. E. Bracco. 2003. Resistance of *Aedes aegypti* from the state of São Paulo, Brazil, to Organophosphates insecticides. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 98(5): 703-708.

Mazzari, M.B. & Georghiou, G.P. 1995. Characterization of organosphosphate, carbamate, and pyrethroid insecticides in field populations of *Aedes aegypti* from Venezuela. **Journal of the American Mosquito Control Association** 11(3): 315-322.

Pereira-da-Cunha, M.; Lima, J. B. P.; Brogdon, W. G.; Moya, G. E. & D. Valee. 2005. Monitoring of resistance to the pyrethroid cypermethrin in Brazilian *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations collected between 2001 and 2003. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 100: 441-444.

Polanczyk, R. A.; Garcia, M. O. & S. B. Alves. 2003. Potencial de *Bacillus thuringiensis israelensis* Berliner no controle de *Aedes aegypti*. **Revista de Saúde Pública** 37(6): 813-816.

Prieto, A. V.; Suárez, M. F. & R. González. 2002. Susceptibilidad de dos poblaciones de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de Cali (Valle, Colombia) a temephos (Abate®) y triflumuron (Starycide®). **Revista Colombiana de Entomologia** 28(2): 175-178.

Rodriguez, M. M.; Bisset, J.A.; Milá, L. H.; Calvo, E.; Diaz, C. & L. A. Soca. 1999. Niveles de resistencia a insecticidas y sus mecanismos em una cepa de *Aedes aegypti* de Santiago de Cuba. **Revista Cubana de Medicina Tropical** 51(2): 83-88.

Sames IV, W.J.; Jr., R. B.; Hayes J. & K. Olson. 1996. Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in the Lower Rio Grande Valley of Texas and México. **Journal of the American Mosquito Control Association** 12(3): 487-490.

Somboon, P.; Prapanthadara, L. & W. Suwonkerd. 2003. Insecticide susceptibility tests of *Anopheles minimus* s. l., *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and *Culex quinquefasciatus* in Northern Thailand. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health** 34(1): 87-93.

Sternersen, J. 2004. **Chemical Pesticides: mode of action and toxicology**. Boca Raton: CRC Press. 227.

Superintendência de Controles de Endemias. São Paulo, SP, Brasil. 2001.

http://www.sucen.sp.gov.br/docs_tec/seguranca/cap12cla.pdf. Consultado em 13/04/06.

Vezzani, D.; Velásquez, S. M. & N. Schweigmann. 2004. Controle de *Aedes aegypti* com temephos em cemitério de Buenos Aires, Argentina. **Rev Saúde Pública** 38 (5): 738-740.

Wirth, M.C. & G.P.Georghiou. 1999. Selection and characterization of temephos resistance in a population of *Aedes aegypti* from Tortola, British Virgin Islands. **Journal of the American Mosquito Control Association** 15(3): 315-320.

World Health Organization. 1981. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. Geneva, 1981. **(WHO/ VCB/ 81.807)**

World Health Organization. 1957. Seventh report Expert Committee on insecticides. **WHO Tech Report Ser** 125-137.

World Health Organization. 1992. Vector Resistance to pesticides. Fifteenth Report of The WHO Expert Committee on Vector Biology and Control. *WHO Technical Report Series*. 818:1-62.